凡纳滨对虾幼虾饲料中适宜钙磷添加水平

安文强[1] 陈效儒[2] 黎文伟[1] 董晓慧[1*] 谭北平[1] 赵 鑫[2]

（1.广东海洋大学水产动物营养与饲料实验室，湛江 524088；2.通威股份有限公司，成都 610041）

摘 要：本试验旨在研究饲料不同钙、磷添加水平对凡纳滨对虾（*Litopenaeus vannamei*）幼虾的生长性能、体成分、组织钙磷水平和血清指标的影响。采用双因素试验设计，在钙添加水平为 0、0.50%、1.00%的条件下，分别添加 0、0.40%、0.80%、1.20%、1.60%的磷，配制 15 种不同钙磷水平的试验饲料。1 800 尾初始重为（0.38±0.01） g 的对虾随机分为 15 组，每组投喂 1 种试验饲料，每组 3 重复，每重复 40 尾虾。养殖 8 周。结果表明：1）饲料钙水平及钙水平与磷水平的交互作用极显著影响对虾的增重率（WGR）、特定生长率（SGR）、蛋白质效率（PER）和饲料系数（FCR）（$P<0.01$）;饲料磷水平极显著影响对虾的 WGR、SGR、PER、FCR 和存活率（SR）（$P<0.01$）。2）饲料钙水平极显著影响对虾的肌肉粗蛋白质（CP）、粗脂肪（CL）、粗灰分（Ash）的含量（$P<0.01$），显著影响对虾的全虾 CL、Ash 的含量（$P<0.05$）；饲料磷水平极显著影响对虾全虾 CP、CL 含量，肌肉 CP、CL、Ash 含量（$P<0.01$）；饲料钙水平与磷水平的交互作用极显著影响对虾全虾 CL 含量，肌肉 CP、CL、Ash 含量（$P<0.01$）。3）饲料钙磷水平及二者的交互作用极显著影响对虾的全虾、肌肉、虾壳的钙磷水平（$P<0.01$）。4）饲料钙水平极显著影响对虾的血清碱性磷酸酶（ALP）、酚氧化酶（PO）活性，钙离子（Ca^{2+}）含量（$P<0.01$）;饲料磷水平极显著的影响对虾血清 ALP、PO 的活性，胆固醇（CHOL）、甘油三酯（TG）、无机磷（IP）的含量（$P<0.01$）,显著影响对虾血清 Ca^{2+}的含量（$P<0.05$）;饲料钙水平与磷水平的交互作用极显著影响对虾的血清 ALP 活性，Ca^{2+}、IP 的含量（$P<0.01$）,显著影响对虾血清 TG 含量（$P<0.05$）。在本试验条件下，以 SGR 为判断依据，通过二次回归曲线模型分析得出：凡纳滨对虾幼虾饲料中钙和磷的适宜添加水平分别为 1.00%和 1.26%。

收稿日期：2017-12-15

基金项目：广东省科技计划项目（2015A020209170）；渔港建设和渔业产业发展专项（A201608C06）；通威股份有限公司资助项目（TW2014I008）；湛江市财政资金科技专项竞争性分配项目（2016A3022）

作者简介：安文强（1993—），男，山西吕梁人，硕士研究生，研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: anwenqiang0314@163.com

*通信作者：董晓慧，教授，博士生导师，E-mail: dongxiaohui2003@163.com

关键词：凡纳滨对虾；钙；磷；生长性能；体成分；组织钙磷水平；血清指标
中图分类号：S966

钙是甲壳动物机体重要的组成成分，除了构成体壳，还参与肌肉收缩、血液凝固、神经传递、调节渗透压、激活酚氧化酶（PO）原系统以及维持细胞膜的完整性和通透性[1-2]。磷是动物细胞核酸及细胞膜的重要成分，同时又直接影响所有细胞的能量反应，对动物的生长、骨骼的矿化有极大的作用，缺乏磷会抑制对虾的生长[3]。

凡纳滨对虾（*Litopenaeus vannamei*）又称南美白对虾，是世界三大主养虾类之一。目前国内外对凡纳滨对虾幼虾的蛋白质、氨基酸、脂肪、生物素、维生素等营养物质的需求量已进行了研究，但关于凡纳滨对虾幼虾矿物质的需求量研究主要集中在钙、镁、铬等[5]少数几种，对钙、磷需求量的研究尚缺乏。Deshimaru 等[6]发现日本囊对虾（*Marsupenaeus japonicus*）在饲料中无需添加钙，仅需添加 2%的磷就可满足其生长需求；而 Kanazawa 等[7]却发现饲料磷的添加水平应为 1%。中国明对虾（*Fenneropenaeus chinensis*）投喂含 0.91%的磷、2.2%的钙的饲料时有最佳生长性能[8]。斑节对虾（*Penaeus monodon*）饲料中钙水平为 1.25%时，添加 1.0%～1.5%的磷生长最佳[9]。印度对虾（*Penaeus indicus*）饲料中钙水平为 1.25%、磷水平为 1.32%可获得最佳生长性能[10]。Davis 等[11]海水中对凡纳滨对虾研究发现，在不额外添加钙时，基础饲料中 0.35%的磷便能维持对虾的生长和存活，若添加 1%和 2%的钙，则需分别添加 0.5%～1.0%和 1.0%～2.0%的磷才能维持对虾的正常生长；而 Cheng 等[12]在低盐度水体对凡纳滨对虾试验发现，当添加 2%的钙时其生长受到抑制，表明钙的添加水平应小于磷添加水平。但同时考查凡纳滨对虾幼虾饲料中钙、磷的适宜添加水平的研究尚未报道，且同一品种在不同盐度条件、生长阶段得到的结果也不尽相同。

饲料中过高的钙磷水平会增加对虾向周围水环境的矿物质排泄，造成水体污染。有研究建议把饲料中钙/磷当成一个独立的矿物质水平指标来看待[13]，要在满足对虾的生长需求的情况下尽量控制钙磷的添加。近年来由于鱼粉价格居高不下，商品饲料中植物蛋白质原料替代鱼粉的比例逐渐升高，鱼粉中磷水平通常在 1.5%～2.5%，植物性蛋白质源中的磷有 40%～90%以植酸磷的形式存在，很难能被水产动物利用，这使得对虾商品饲料中钙磷的水平不断降低[14]。本试验在商品基础饲料基础上，通过研究不同钙磷添加水平对凡纳滨对虾幼虾生长性能、体成分、组织钙磷水平、血清指标的影响，确定凡纳滨对虾幼虾饲料中适宜的钙磷

添加水平，结果可为凡纳滨对虾高效配合饲料的生产提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料和试验设计

以鱼粉、虾壳粉、豆粕、花生粕和玉米蛋白粉为蛋白质源，鱼油、豆油和大豆卵磷脂为脂肪源，面粉为糖源，配制基础饲料，其组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
红鱼粉 Brown fish meal	20.00
去皮豆粕 Peeled soybean meal	20.00
花生粕 Peanut meal	10.00
虾壳粉 Shrimp shell meal	4.00
玉米蛋白粉 Corn protein powder	6.00
面粉 Wheat flour	20.82
鱼油 Fish oil	1.20
大豆油 Soybean oil	1.20
大豆卵磷脂 Soybean lecithin	1.00
维生素预混料 Vitamin premix[1)]	0.10
矿物元素预混料 Mineral premix[2)]	0.10
氯化胆碱 Choline chloride	0.50
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.03
维生素 C Vitamin C（35%）	0.05
羧甲基纤维素钠 Sodium carboxymethyl cellulose	1.00
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	14.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels	
粗蛋白质 CP	41.65
粗脂肪 CL	7.04
粗灰分 Ash	7.43
钙 Ca	1.69
磷 P	1.41

[1)] 每千克维生素预混料含有 Contained the following per kg of vitamin premix:维生素 A 醋酸酯 retinyl acetate 10.00 g，VD_3 50.00 g，VE 99.00 g，VK 5.00 g，VB_1 25.50g ，VB_2 25.00 g，VB_6 50.00 g，VB_{12} 0.10 g，泛酸钙 calcium pantothenate 61.00 g，烟酸 nicotinic acid 101.00 g，生物素 biotin 25.00 g，肌醇 inositol 153.06 g，叶酸 folic acid 6.25 g，纤维素 cellulose 389.09 g。

2) 每千克矿物质预混料含有 Contained the following per kg of mineral premix:KIO_3 40.03 g，$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 4.07 g，$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 19.84 g，$FeC_6H_5O_7$ 13.71 g，$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 28.28 g，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.12 g，$MnSO_4 \cdot H_2O$ 12.43 g，KCl 15.33 g，Na_2SeO_3 2.00 g，沸石粉 zeolite power 864.19 g。

以乳酸钙（国药集团化学试剂有限公司）为钙源、磷酸二氢钠（国药集团化学试剂有限公司）为磷源，在钙添加水平分别为 0、0.50%、1.00%条件下，分别添加 0、0.40%、0.80%、1.20%、1.60%的磷，制成 15 种试验饲料。饲料原料粉碎过 80 目筛，并按配方准确称取，采用逐级扩大法混合，第 1 次混合 15 min 后，加鱼油、大豆油和大豆卵磷脂，然后混匀，过 80 目筛，加入蒸馏水（30%，*V*/*m*），再混合均匀，压制成直径分别为 1.0 和 1.5 mm 的颗粒饲料，60 ℃熟化 30 min，风干后编号分装，-20 ℃保存备用。

1.2　试验用虾及饲养管理

养殖试验在广东省湛江市东海岛广东海洋大学海洋生物研究基地室内海水养殖系统中进行，凡纳滨对虾幼虾购于湛江市东海岛中联虾苗厂。幼虾购回后，在室外水泥池中标粗至所需规格。正式试验开始前，投喂基础饲料 1 周，使对虾适应饲料。根据试验设计，共 15 组，每组 3 重复，每重复 1 个 0.30 m^3 的玻璃钢桶。对虾停喂 24 h 后，挑选出规格均匀、健壮、活力强的对虾[初重（0.38±0.01） g]，随机分配于玻璃钢桶中，每桶放 40 尾虾，养殖期 8 周。每天投喂 4 次（07:00、11:00、17:00、21:00），饱食投喂，投喂 1 h 后查料，根据对虾摄食情况及天气情况调整投喂量。养殖期间不间断充氧。对虾养殖前 2 周每 2 天换水 1 次，后 6 周每天换水 1 次。试验期间水温 28~31 ℃，盐度 21~24，pH 7.8~8.2，溶氧≥5 mg/L，氨氮＜0.2 mg/L，亚硝酸盐＜0.05 mg/L。

1.3　样品采集与测定

1.3.1　样品采集

试验结束禁食 24 h 后称重、计数，计算生长指标。然后每桶随机取 15 尾虾，逐尾用 1 mL 注射器从第五步足基部血窦采集血液，合并置于 Eppendorf 管中，4 ℃保存过夜，以 3 000 r/min 离心 10 min 后收集血清，-80 ℃保存备测血清指标。另每桶取 10 尾虾沥干水分后装于封口袋中，剩余的对虾剥离虾壳和肌肉，-20 ℃保存，备测常规成分。

1.3.2　饲料、全虾及肌肉常规成分分析方法

饲料、全虾及肌肉样品的水分测定采用105 ℃烘干恒重法，粗蛋白质（CP）含量测定

采用凯氏定氮法（Kjeltec^{TM} 8400，瑞典），粗脂肪（CL）含量测定采用索式抽提法（抽提剂为石油醚），粗灰分（Ash）含量测定采用马弗炉550 ℃灼烧法。

1.3.3　饲料、全虾、肌肉和虾壳的钙磷水平分析方法

样品烘干磨粉后，将样品置放于具塞试管中加入 5 mL 默克硝酸，70 ℃水浴消化 2 h，然后在消化炉上赶酸 5 h，加入 1 mL 双氧水，赶酸至剩下 1 mL 稀释。最后用电感耦合等离子体发射光谱仪（ICP）测定钙磷水平。

1.3.4　血清指标分析方法

碱性磷酸酶（ALP）活性采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定；PO 活性参照 Huang 等[15]的方法测定；胆固醇（CHOL）、甘油三酯（TG）、钙离子（Ca^{2+}）和无机磷（IP）含量利用全自动生化分析仪（日立 7020HITACHI，日本）检测。

1.3.5　生长指标的计算

增重率（WGR，%）=[（末均重－初均重）/初均重]×100；

特定生长率（SGR，%/d）=[（ln 末均重－ln 初均重）/饲养天数]×100;

蛋白质效率（PER）=（终末体重－初始体重）/（饲料摄入量×饲料 CP 含量）；

饲料系数（FCR）=摄食饲料干重/（终末体重－初始体重）；

成活率（SR，%）=[试验结束时虾尾数/试验开始时虾尾数]×100。

1.4　数据处理

数据采用SPSS 17.0对数据进行双因素方差分析，若存在显著性差异，再采用Duncan氏多重比较，检验组间的差异显著性。试验结果用“平均值±标准差”表示。P<0.05表示差异显著，P<0.01表示差异极显著。

2　结　果

2.1　饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾生长性能的影响

凡纳滨对虾生长性能结果见表 2。饲料钙水平对 WGR、SGR、PER 和 FCR 有极显著影响（P<0.01），对 SR 没有显著影响（P＞0.05）。饲料磷水平对 WGR、SGR、PER 和 FCR 有极显著影响（P<0.01）。WGR 和 SGR 随着饲料磷水平的升高而升高，但 0.80%～1.60%水平之间没有显著性差异（P＞0.05）。PER 随着饲料磷水平的提高先升高后降低，在 0.80%磷水平达到最大，显著高于其他水平（P<0.05）。FCR 随着饲料磷水平的提高先降低后升高，在

0.80%磷水平时有最小的 FCR。除 1.2％外，其他磷添加水平均显著地提高了 SR（P<0.05）。饲料钙水平与磷水平的交互作用极显著地影响 WGR、SGR、FER 和 FCR（P<0.01），对 SR 无显著性影响（P＞0.05）。

以 SGR 为判断依据，通过二次回归曲线和折线模型分析得出：饲料中不添加钙时，饲料中可添加 1.17%的磷；添加 0.50%的钙时，饲料中可添加 1.00%的磷；添加 1.00%的钙时，饲料中可添加 1.26%的磷。对虾在添加 1.00%的钙和 1.26%的磷时有最大 SGR（图 1）。

表 2　饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾生长性能的影响

Table 2　Effects of dietary Ca and P supplemental levels on growth performance of *Litopenaeus vannamei*

钙（总钙） Ca（TCa）/%	磷(总磷) P（TP）/%	增重率 WGR/%	特定生长率 SGR/(%/d)	蛋白质效率 PER/%	饲料系数 FCR	存活率 SR/%
0（1.69）	0（1.41）	2 187.06±104.59^{a}	5.59±0.33^{a}	161.81±1.47^{b}	2.49±0.02^{j}	85.00±7.07^{a}
0（1.64）	0.40（1.86）	3 260.65±224.48^{c}	6.27±0.12^{c}	187.51±1.75^{f}	1.78±0.03^{cde}	96.67±3.82^{b}
0（1.65）	0.80（2.32）	3 608.15±271.93^{de}	6.45±0.13^{de}	195.42±4.82^{g}	1.56±0.05^{a}	95.83±3.82^{b}
0（1.68）	1.20（2.71）	3 587.43±76.81^{de}	6.44±0.04^{de}	172.93±1.71^{c}	1.84±0.03^{ef}	95.00±2.50^{b}
0（1.62）	1.60（3.15）	3 670.94±105.49^{def}	6.48±0.05^{def}	174.46±1.52^{c}	1.85±0.02^{f}	97.50±2.50^{b}
0.50（2.14）	0（1.42）	2 677.40±203.24^{b}	5.93±0.13^{b}	146.37±1.43^{a}	2.39±0.04^{i}	94.17±1.44^{b}
0.50（2.15）	0.40（1.89）	3 541.52±8.89^{cde}	6.42±0.01^{cde}	182.71±0.55^{ef}	1.76±0.01^{bcd}	94.17±2.89^{b}
0.50（2.13）	0.80（2.30）	3 750.21±88.92^{efg}	6.52±0.04^{efg}	181.35±1.11^{e}	1.75±0.01^{bc}	98.33±2.89^{b}
0.50（2.17）	1.20（2.74）	3 544.52±179.26^{cde}	6.42±0.09^{cde}	171.09±2.96^{c}	1.85±0.04^{f}	92.50±2.50^{b}
0.50（2.18）	1.60（3.11）	3 470.71±58.90^{cde}	6.38±0.03^{cde}	164.00±2.54^{b}	1.94±0.00^{g}	98.33±1.44^{b}
1.00（2.69）	0（1.38）	2 572.35±126.66^{b}	5.87±0.09^{b}	142.59±1.04^{a}	2.51±0.04^{j}	92.50±4.33^{b}
1.00（2.68）	0.40（1.83）	3 410.79±86.98^{cd}	6.35±0.04^{cd}	162.28±3.88^{b}	2.05±0.02^{h}	99.17±1.44^{b}
1.00（2.68）	0.80（2.31）	3 745.52±137.80^{efg}	6.51±0.06^{efg}	175.31±2.54^{cd}	1.82±0.03^{def}	96.67±3.82^{b}
1.00（2.63）	1.20（2.70）	4 023.93±271.50^{g}	6.64±0.12^{g}	180.25±1.29^{de}	1.70±0.01^{b}	95.00±5.00^{b}
1.00（2.70）	1.60（3.16）	3 938.19±192.60^{fg}	6.60±0.08^{fg}	175.77±3.47^{cd}	1.73±0.04^{bc}	93.33±2.89^{b}
钙水平 Ca level/%	0	3 262.85±594.61^{a}	6.25±0.36^{a}	180.03±15.15^{c}	1.91±0.33^{a}	94.64±5.27
	0.50	3 396.87±400.16^{b}	6.34±0.22^{b}	169.81±13.46^{b}	1.92±0.24^{b}	95.50±3.16
	1.00	3 538.16±565.11^{c}	6.40±0.30^{b}	166.79±13.97^{a}	1.96±0.32^{b}	95.33±3.99
磷水平 P level/%	0	2 478.94±258.96^{a}	5.80±0.18^{a}	150.26±9.17^{a}	2.47±0.06^{d}	91.25±5.35^{a}
	0.40	3 404.32±171.24^{b}	6.35±0.09^{b}	176.25±11.94^{c}	1.85±0.14^{c}	96.67±3.31^{b}
	0.80	3 701.29±173.48^{c}	6.49±0.08^{c}	186.69±13.47^{d}	1.71±0.12^{a}	96.94±3.25^{b}
	1.20	3 718.62±284.10^{c}	6.50±0.13^{c}	174.75±4.63^{c}	1.80±0.08^{b}	94.17±3.31^{ab}
	1.60	3 693.28±232.76^{c}	6.49±0.11^{c}	170.36±6.33^{b}	1.84±0.10^{c}	96.39±3.09^{b}
双因素方差分析 P 值 P-value of two-factor ANOVA						
钙水平 Ca level		<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.438
磷水平 P level		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.003
钙水平×磷水平 Ca level×P level		0.005	0.002	<0.001	<0.001	0.054

同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著(P＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(P＜0.05)。下

表同。

In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

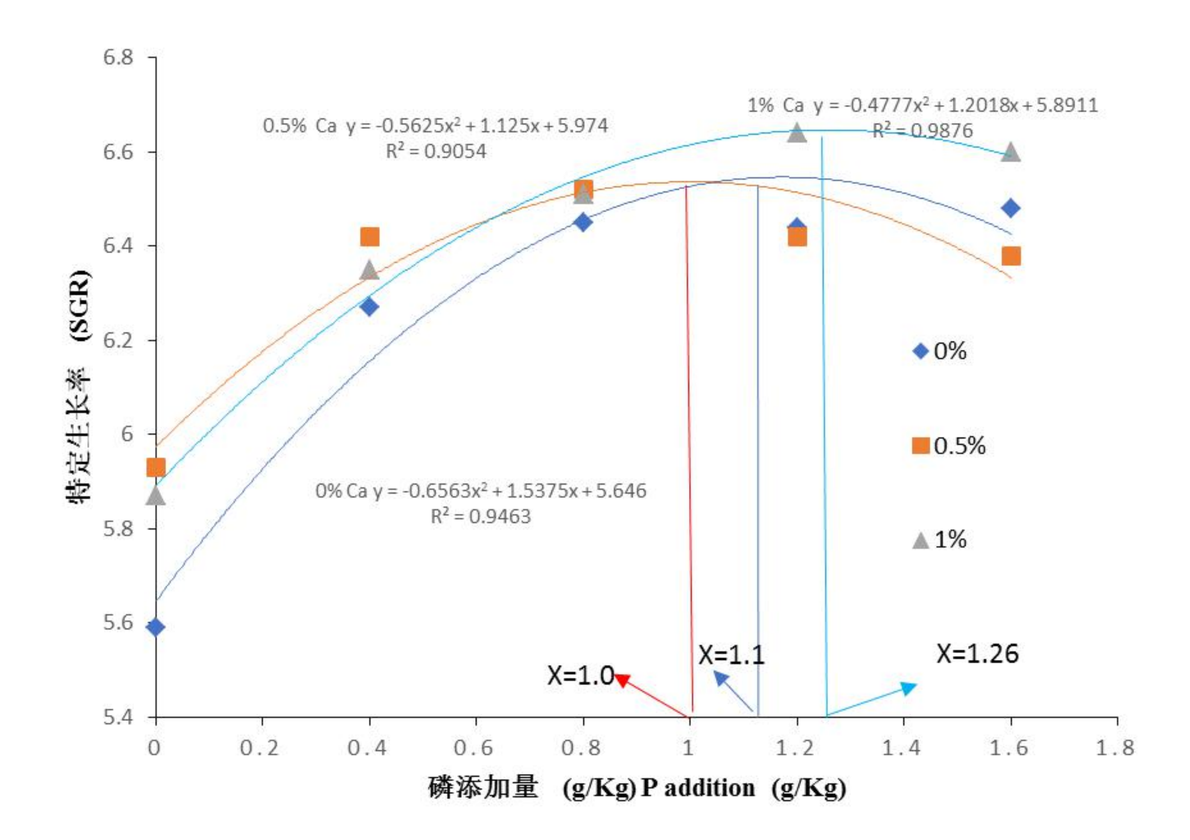


图 1　3 个钙添加水平下凡纳滨对虾饲料中磷的最适添加水平

Fig.1　The optimum supplemental level of P in diet for *Litopenaeus vannamei* under three Ca supplemental levels

2.2　饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾全虾及肌肉常规成分的影响

凡纳滨对虾全虾及肌肉常规成分的结果见表 3。饲料钙水平极显著地影响肌肉 CP、CL、Ash 的含量（$P<0.01$），显著影响全虾 CL、Ash 的含量（$P<0.05$），对全虾 CP 含量的影响不显著（$P>0.05$）。磷水平极显著地影响全虾 CP、CL 含量和肌肉 CP、CL、Ash 含量（$P<0.01$），对全虾 Ash 的含量没有显著影响（$P>0.05$）。饲料钙水平与磷水平的交互作用极显著地影响全虾 CL 含量和肌肉 CP、CL、Ash 含量（$P<0.01$），对全虾 CP、Ash 的含量影响不显著（$P>0.05$）。

饲料中添加不同水平的钙显著提高了全虾 Ash 含量和肌肉 CP 含量（$P<0.05$），显著降低了全虾 CL 含量和肌肉 CL、Ash 含量（$P<0.05$）。

全虾和肌肉 CP 含量随着磷水平的提高逐渐增加然后趋于稳定。饲料中添加 1.60%的显

著降低了全虾 CL 含量（P<0.05），饲料中添加不同水平的磷显著地降低了肌肉 CL 的含量（P<0.05），饲料中添加 0.80%～1.60%的磷显著提高了肌肉 Ash 含量（P<0.05）。

表 3 饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾全虾及肌肉常规成分的影响（干物质基础）

Table 3 Effects of dietary Ca and P supplemental levels on composition of whole body and muscle of *Litopenaeus vannamei* （DM basis） %

		全虾 Whole body			肌肉 Muscle		
钙（总钙） Ca（TCa）/%	磷(总磷) P（TP）/%	粗蛋白质 CP	粗脂肪 CL	粗灰分 Ash	粗蛋白质 CP	粗脂肪 CL	粗灰分 Ash
0（1.69）	0（1.41）	72.28±0.23^{a}	10.79±0.19^{bcd}	13.76±0.20^{c}	85.82±0.62^{a}	12.50±0.19^{d}	5.79±0.08^{bc}
0（1.64）	0.40（1.86）	73.34±0.11^{bcd}	12.53±0.17^{g}	12.42±0.40^{a}	87.78±0.48^{b}	11.09±0.65^{ab}	5.66±0.29^{ab}
0（1.65）	0.80（2.32）	73.77±0.15^{cdef}	12.00±0.10^{fg}	13.11±0.11^{abc}	88.95±0.46^{cd}	10.62±0.92^{ab}	6.21±0.11^{g}
0（1.68）	1.20（2.71）	74.11±0.49^{def}	11.61±0.09^{ef}	12.43±0.15^{a}	89.19±0.23^{cde}	10.88±0.58^{ab}	6.26±0.06^{g}
0（1.62）	1.60（3.15）	74.56±0.51^{fg}	9.96±0.76^{a}	12.98±0.03^{ab}	90.69±1.18^{f}	10.17±0.44^{ab}	6.21±0.01^{g}
0.50（2.14）	0（1.42）	72.57±0.13^{ab}	11.32±0.02^{def}	13.60±0.16^{bc}	88.44±0.44^{bc}	11.46±0.08^{c}	5.53±0.04^{a}
0.50（2.15）	0.40（1.89）	73.00±0.08^{abc}	11.33±0.07^{def}	13.49±0.19^{bc}	89.14±1.0^{cde}	10.96±0.20^{bc}	5.77±0.11^{bc}
0.50（2.13）	0.80（2.30）	73.40±0.18^{bcde}	11.83±0.40^{f}	13.04±0.10^{abc}	89.86±0.30^{def}	10.34±0.13^{ab}	5.91±0.03^{cde}
0.50（2.17）	1.20（2.74）	74.48±0.11^{fg}	10.50±0.61^{abc}	13.46±0.20^{bc}	90.62±0.51^{f}	9.78±0.42^{a}	6.07±0.07^{efg}
0.50（2.18）	1.60（3.11）	75.30±0.22^{g}	10.18±0.48^{ab}	13.24±0.62^{bc}	90.64±0.54^{f}	9.80±0.87^{ab}	6.24±0.08^{g}
1.00（2.69）	0（1.38）	73.06±0.17^{abc}	11.47±0.14^{def}	13.25±0.13^{bc}	88.64±0.20^{bc}	10.45±0.37^{ab}	5.63±0.01^{ab}
1.00（2.68）	0.40（1.83）	73.89±0.11^{cdef}	10.78±0.33^{bcd}	13.23±0.12^{bc}	90.08±0.24^{ef}	10.02±0.13^{a}	5.83±0.00^{bcd}
1.00（2.68）	0.80（2.31）	74.28±0.71^{ef}	10.58±0.10^{abc}	13.27±0.16^{bc}	90.26±0.32^{f}	10.22±0.34^{ab}	5.99±0.13^{def}
1.00（2.63）	1.20（2.70）	74.30±1.00^{ef}	11.09±0.04^{cde}	13.38±0.21^{bc}	89.08±0.03^{cde}	10.53±0.35^{ab}	6.14±0.01^{fg}
1.00（2.70）	1.60（3.16）	74.17±0.10^{def}	10.96±0.15^{cde}	13.17±0.63^{bc}	88.72±0.18^{bc}	10.60±0.54^{ab}	5.97±0.07^{cdef}
钙水平 Ca level/%	0	73.73±0.86	11.48±0.96^{b}	12.94±0.55^{a}	88.48±1.77^{a}	11.05±0.96^{b}	6.03±0.29^{b}
	0.50	73.75±1.06	10.92±0.73^{a}	13.37±0.34^{b}	89.74±1.02^{b}	10.47±0.78^{a}	5.90±0.26^{a}
	1.00	73.94±0.64	11.00±0.37^{a}	13.25±0.31^{b}	89.43±0.76^{b}	10.37±0.38^{a}	5.92±0.17^{a}
磷水平 P level/%	0	72.64±0.38^{a}	11.24±0.33^{bc}	13.54±0.26	87.63±1.42^{a}	11.47±0.91^{b}	5.65±0.13^{a}
	0.40	73.41±0.41^{b}	11.57±0.85^{c}	13.11±0.53	89.00±1.15^{b}	10.69±0.61^{a}	5.75±0.17^{a}
	0.80	73.82±0.52^{bc}	11.46±0.70^{c}	13.14±0.14	89.69±0.66^{c}	10.39±0.52^{a}	6.04±0.16^{b}
	1.20	74.27±0.53^{cd}	11.06±0.61^{b}	13.14±0.51	89.70±0.82^{c}	10.40±0.63^{a}	6.16±0.10^{c}
	1.60	74.66±0.57^{d}	10.34±0.61^{a}	13.15±0.48	90.18±1.14^{c}	10.19±0.65^{a}	6.14±0.14^{bc}
双因素方差分析 P 值 P-value of two-factor ANOVA							
钙水平 Ca level		0.194	0.022	0.018	<0.001	0.001	0.007
磷水平 P level		<0.001	<0.001	0.103	<0.001	<0.001	<0.001
钙水平×磷水平 Ca level×P level		0.061	<0.001	0.057	<0.001	0.003	0.005

2.3 饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾组织钙磷水平的影响

凡纳滨对虾组织钙磷水平的结果见表 4。饲料钙磷水平及其交互作用均极显著地影响全虾、肌肉和虾壳的钙磷水平（P<0.01）。饲料中添加不同水平的钙显著地提高了全虾的钙磷水平和虾壳的钙水平（P<0.05），显著降低了肌肉的钙水平（P<0.05）。随着饲料钙水平的提

高肌肉磷水平先降低再升高，钙水平为 1.00%时达到最高，并各水平间存在显著性差异（*P*<0.05）。对虾全虾的钙磷水平、肌肉和虾壳的钙水平随着饲料磷水平的提高均呈先增加后减少趋势。随着磷水平的提高，肌肉的磷水平持续增加，而虾壳的磷水平逐渐增加后趋于稳定。

表 4　饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾组织钙磷水平的影响

Table 4　Effects of dietary Ca and P supplemental levels on Ca and P levels in tissues of *Litopenaeus vannamei*

g/kg

		全虾 Whole body		肌肉 Muscle		虾壳 Exoskeleton	
钙（总钙） Ca（TCa）/%	磷（总磷） P（TP）/%	钙 Ca	磷 P	钙 Ca	磷 P	钙 Ca	磷 P
0（1.69）	0（1.41）	30.43±0.51^{a}	10.59±0.52^{a}	8.68±0.59^{e}	11.39±0.53^{a}	145.50±0.50^{a}	6.35±0.57^{a}
0（1.64）	0.40（1.86）	30.61±0.53^{a}	13.53±0.50^{c}	8.62±0.54^{e}	16.50±0.50^{de}	146.36±0.56^{a}	8.66±0.57^{c}
0（1.65）	0.80（2.32）	32.56±0.51^{b}	15.18±0.28^{d}	6.59±0.52^{d}	16.63±0.55^{de}	168.20±1.06^{g}	14.38±0.54^{gh}
0（1.68）	1.20（2.71）	37.50±0.50^{f}	18.31±0.53^{f}	6.57±0.51^{d}	16.47±0.50^{d}	165.44±0.51^{e}	13.56±0.51^{fg}
0（1.62）	1.60（3.15）	34.65±0.56^{de}	17.38±0.54^{e}	4.48±0.50^{b}	19.55±0.51^{g}	155.65±0.56^{c}	13.00±1.00^{f}
0.50（2.14）	0（1.42）	34.51±0.50^{d}	12.50±0.50^{b}	5.52±0.50^{c}	12.62±0.54^{b}	148.54±0.51^{b}	6.59±0.53^{a}
0.50（2.15）	0.40（1.89）	38.49±0.50^{g}	15.49±0.50^{d}	6.36±0.56^{d}	12.38±0.54^{b}	148.56±0.51^{b}	10.18±0.28^{d}
0.50（2.13）	0.80（2.30）	37.51±0.50^{f}	15.63±0.55^{d}	6.46±0.51^{d}	16.50±0.50^{de}	162.36±0.56^{d}	11.19±0.27^{e}
0.50（2.17）	1.20（2.74）	41.60±0.53^{h}	23.45±0.51^{h}	7.21±0.26^{d}	17.43±0.52^{e}	162.59±0.52^{d}	13.59±0.52^{fgh}
0.50（2.18）	1.60（3.11）	32.37±0.54^{b}	15.39±0.54^{d}	4.52±0.50^{b}	18.52±0.50^{f}	174.60±0.53^{h}	14.60±0.53^{h}
1.00（2.69）	0（1.38）	33.55±0.51^{c}	12.38±0.54^{b}	4.36±0.56^{ab}	12.41±0.52^{b}	166.66±0.57^{f}	7.55±0.51^{b}
1.00（2.68）	0.40（1.83）	35.55±0.51^{e}	15.49±0.50^{d}	6.54±0.50^{d}	14.38±0.54^{c}	168.20±1.06^{g}	11.46±0.50^{e}
1.00（2.68）	0.80（2.31）	35.53±0.50^{e}	18.43±0.51^{f}	4.36±0.55^{ab}	20.43±0.51^{h}	167.59±0.52^{fg}	14.46±0.51^{gh}
1.00（2.63）	1.20（2.70）	45.84±0.77^{i}	22.42±0.52^{g}	3.46±0.50^{a}	19.50±0.50^{g}	177.64±0.56^{i}	14.41±0.52^{gh}
1.00（2.70）	1.60（3.16）	49.38±0.54^{j}	18.44±0.51^{f}	4.21±0.26^{ab}	18.49±0.50^{f}	167.54±0.50^{fg}	13.56±0.51^{fg}
钙水平 Ca level/%	0	33.15±2.79^{a}	15.00±2.89^{a}	6.99±1.68^{c}	16.11±2.76^{b}	156.23±9.74^{a}	11.19±3.29^{a}
	0.50	36.90±3.34^{b}	16.49±3.82^{b}	6.01±1.03^{b}	15.49±2.65^{a}	159.33±10.21^{b}	11.23±2.93^{a}
	1.00	39.97±6.62^{c}	17.43±3.49^{c}	4.59±1.15^{a}	17.04±3.24^{c}	169.53±4.27^{c}	12.29±2.73^{b}
磷水平 P level/%	0	32.83±1.90^{a}	11.83±1.03^{a}	6.19±1.99^{b}	12.14±0.73^{a}	153.57±9.92^{a}	6.83±0.72^{a}
	0.40	34.88±3.48^{b}	14.84±1.07^{b}	7.17±1.18^{c}	14.42±1.84^{b}	154.37±10.43^{b}	10.10±1.28^{b}
	0.80	35.20±2.21^{b}	16.41±1.58^{c}	5.80±1.17^{b}	17.85±1.99^{c}	166.05±2.86^{c}	13.34±1.66^{c}
	1.20	41.65±3.65^{d}	21.39±2.40^{e}	5.74±1.78^{b}	17.80±1.41^{c}	168.56±6.94^{d}	13.85±0.61^{c}
	1.60	38.80±8.01^{c}	17.07±1.42^{d}	4.40±0.41^{a}	18.85±0.68^{d}	165.93±8.31^{c}	13.72±0.94^{c}
双因素方差分析 *P* 值 *P*-value of two-factor ANOVA							
钙水平 Ca level		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
磷水平 P level		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
钙水平×磷水平 Ca level×P level		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4　饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾血清指标的影响

凡纳滨对虾血清指标的结果见表 5。饲料钙水平极显著影响血清 ALP 和 PO 的活性及

Ca^{2+}的含量（P<0.01），对 CHOL、TG 和 IP 的含量影响不显著（P>0.05）。饲料磷水平极显著地影响血清 ALP、PO 的活性和 CHOL、TG、IP 的含量（P<0.01），显著地影响 Ca^{2+}的含量（P<0.05）。饲料钙水平与磷水平的交互作用极显著地影响血清 ALP 的活性和 Ca^{2+}、IP 的含量（P<0.01），显著地影响 TG 的含量（P<0.05），对 PO 的活性、CHOL 的含量无显著性影响（P>0.05）。

饲料中添加不同水平的钙，显著地提高了血清 ALP、PO 的活性和降低了 Ca^{2+}的含量（P<0.05）。饲料中添加不同水平的磷，显著降低了血清 ALP 的活性和 CHOL、TG 的含量（P<0.05），但 0.80%～1.60%水平之间的 ALP 活性无显著差异（P>0.05），0.40%和 0.80%、1.20%和 1.60%水平的 TG 含量也无显著性差异（P>0.05）。血清 PO 的活性随着饲料磷水平的提高先升高后下降，在 0.40%水平达到最大值。饲料中添加不同水平的磷显著升高了血清 Ca^{2+}和 IP 的含量（P<0.05），但 0.40%～1.60%水平间均无显著性差异（P>0.05）。

表 5　饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾血清指标的影响

Table 5　Effects of dietary Ca and P supplemental levels on serum indexes of *Litopenaeus vannamei*

钙（总钙）Ca（TCa）/%	磷(总磷) P（TP）/%	碱性磷酸酶 ALP/(金氏单位/dL)	酚氧化酶 PO/(U/mL)	胆固醇 CHOL/(mmol/L)	甘油三酯 TG/(mmol/L)	钙离子 Ca^{2+}/(mmol/L)	无机磷 IP/(mmol/L)
0（1.69）	0（1.41）	10.26±1.66^{ef}	411.11±165.48^{abc}	0.82±0.10^{def}	0.64±0.11^{ef}	15.00±0.47^{bcde}	4.83±0.04^{a}
0（1.64）	0.40（1.86）	9.48±2.29^{ef}	562.50±53.03^{cde}	0.81±0.25^{cdef}	0.63±0.14^{ef}	14.90±0.47^{bcde}	7.32±0.78^{cde}
0（1.65）	0.80（2.32）	3.12±0.57^{a}	454.17±53.03^{bcd}	0.77±0.11^{cde}	0.55±0.02^{de}	15.76±1.35^{e}	8.55±0.42^{e}
0（1.68）	1.20（2.71）	3.20±0.17^{a}	275.00±47.14^{a}	0.61±0.12^{abcd}	0.43±0.04^{abcd}	15.95±0.84^{e}	5.64±0.59^{ab}
0（1.62）	1.60（3.15）	3.34±0.38^{a}	325.00±0.00^{ab}	0.48±0.04^{ab}	0.41±0.12^{abcd}	14.79±0.17^{abcde}	7.04±0.11^{bcd}
0.50（2.14）	0（1.42）	10.72±0.87^{f}	541.67±94.28^{cde}	0.99±0.26^{ef}	0.75±0.17^{fg}	13.84±0.02^{ab}	6.59±0.06^{bcd}
0.50（2.15）	0.40（1.89）	8.37±1.18^{de}	645.83±88.39^{e}	0.70±0.13^{bcd}	0.56±0.05^{de}	15.30±0.38^{cde}	6.86±0.11^{bcd}
0.50（2.13）	0.80（2.30）	6.92±0.43^{cd}	600.00±23.57^{de}	0.56±0.11^{abcd}	0.53±0.01^{cde}	14.23±0.11^{abcd}	6.71±0.53^{bcd}
0.50（2.17）	1.20（2.74）	4.73±1.08^{ab}	525.00±0.00^{cde}	0.44±0.03^{ab}	0.32±0.07^{ab}	15.25±0.11^{cde}	7.39±1.23^{cde}
0.50（2.18）	1.60（3.11）	4.58±1.49^{ab}	458.33±17.14^{bcd}	0.35±0.01^{a}	0.26±0.05^{a}	15.53±0.33^{de}	6.9±0.13^{bcd}
1.00（2.69）	0（1.38）	17.25±0.50^{g}	520.83±5.89^{cde}	1.06±0.13^{f}	0.92±0.08^{g}	13.91±0.25^{ab}	6.35±1.04^{bc}
1.00（2.68）	0.40（1.83）	6.10±0.89^{bc}	529.17±5.89^{cde}	0.70±0.06^{bcd}	0.47±0.02^{bcde}	14.18±0.47^{abc}	7.2±0.34^{cde}
1.00（2.68）	0.80（2.31）	4.05±0.75^{a}	466.67±0.00^{bcd}	0.62±0.01^{abcd}	0.40±0.11^{abcd}	14.79±0.22^{abcde}	6.74±0.36^{bcd}
1.00（2.63）	1.20（2.70）	6.10±0.73^{bc}	316.67±58.93^{ab}	0.57±0.10^{abcd}	0.34±0.05^{abc}	13.56±0.67^{a}	8.03±0.28^{de}
1.00（2.70）	1.60（3.16）	9.15±1.00^{ef}	462.50±29.46^{bcd}	0.54±0.14^{abc}	0.30±0.07^{ab}	14.81±0.15^{abcde}	6.81±0.00^{bcd}
	0	5.27±3.32^{a}	406.06±127.97^{a}	0.69±0.18	0.52±0.13	15.53±0.80^{c}	6.73±1.39
钙水平	0.50	7.43±2.49^{b}	554.17±82.24^{c}	0.59±0.25	0.47±0.21	14.82±0.72^{b}	6.93±0.66
Ca level/%	1.00	8.13±4.58^{b}	482.50±53.35^{b}	0.68±0.20	0.47±0.22	14.25±0.59^{a}	7.02±0.72
	0	12.45±3.40^{c}	479.76±121.70^{a}	0.95±0.18^{d}	0.77±0.16^{c}	14.25±0.63^{a}	5.92±0.97^{a}
	0.40	7.80±1.88^{b}	579.17±70.86^{b}	0.73±0.13^{c}	0.54±0.09^{b}	14.87±0.62^{b}	7.15±0.52^{b}

磷水平	0.80	4.78±1.88[a]	506.94±76.81[ab]	0.65±0.12[bc]	0.48±0.10[b]	15.16±1.11[b]	7.33±1.01[b]
P leve/%	1.20	4.67±1.46[a]	411.11±124.46[a]	0.54±0.11[ab]	0.35±0.07[a]	15.05±1.21[b]	7.07±1.27[b]
	1.60	5.36±2.76[a]	415.28±74.24[a]	0.47±0.12[a]	0.32±0.10[a]	15.07±0.39[b]	6.92±0.13[b]
双因素方差分析 *P* 值 *P*-value of two-factor ANOVA							
钙水平 Ca level		<0.001	0.002	0.161	0.363	<0.001	0.450
磷水平 P level		<0.001	0.008	<0.001	<0.001	0.031	0.009
钙水平×磷水平 Ca level×P level		<0.001	0.603	0.332	0.040	0.006	0.004

3 讨 论

3.1 饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾生长性能的影响

Davis 等[11]研究发现，若不添加钙，基础饲料中含 0.35%的磷就可以维持凡纳滨对虾的生长和存活；若添加 1%钙，则添加 2%的磷时对虾有最大的 WGR 和 SR。Cheng 等[12]报道盐度为 2 的水体中养殖的凡纳滨对虾在无钙饲料中，添加 0.77%的有效磷（0.93%总磷）就能满足其生长；当添加 1%的钙时，饲料中需添加 1.22%的有效磷（2%的总磷），凡纳滨对虾才具有较好的生长性能。本试验结果发现，饲料钙磷水平及二者的交互作用均显著影响凡纳滨对虾的 WGR、SGR、PER 和 FCR；同一饲料钙水平下，对虾不添加磷的组别的 WGR、SGR 和 PER 都显著低于其他各组，不添加钙和磷的基础饲料组的 SR 显著低于其他各组。这与 Davis 等[11]和 Cheng 等[12]的研究结果一致。对虾能吸收水体中的矿物质，但水体中磷水平很少，远远不能满足对虾的生长要求，所以必须在饲料中添加磷。本试验中随着饲料磷水平的提高，对虾的 WGR、SGR 和 PER 均升高，这与凡纳滨对虾[16]、斑节对虾[9]、中华绒螯蟹（*Eriocheir sinensis*）[17]、大黄鱼（*Larimichthys crocea*）[18]和军曹鱼（*Rachycentron canadum*）[19]的研究结果一致；而 Peñaflorida[20]研究发现，在不添加钙，添加 0.5%的磷时斑节对虾有最大的 WGR 和 SR；随着饲料磷水平的升高，斑节对虾的 WGR 和 SR 远低于对照组。Ambasankar 等[9]在研究不同磷水平对斑节对虾的生长性能影响时发现，钙水平 1.25%的饲料中，1.5%的磷使对虾有最大的 WGR 和 SR；而磷水平为 2.5%时，对虾的 SR 最低。这些结果表明，饲料磷水平过高会出现的磷抑制对虾生长。Roy 等[21]和 Shao 等[22]分别在黑线鳕鱼（*Melanogrammus aeglefinus*）和黑鲷幼鱼（*Sparus macrocephlus*）试验中得到了同样的结果。本试验中凡纳滨对虾幼虾没有出现过量磷抑制生长的现象，可能与对虾幼期生长速度快，蜕壳次数多，需要较多的磷有关。Niu 等[23]在研究凡纳滨对虾仔虾期的磷需要量时也发现对虾在早期需要更高的磷。

对虾生长、蜕壳需要大量的钙磷，而一般情况下对虾能通过腮和消化道上皮从养殖水体

中吸收足够的钙，所以通常认为对虾饲料中并不需要额外添加钙，只需要添加磷便能满足对虾的生长[24]。饲料中钙水平会影响对虾对磷的吸收利用，当饲料钙过量时，Ca^{2+}与磷酸根结合形成磷酸钙从而影响磷的消化吸收[25]。Davis 等[26]研究表明，对虾饲料中的钙水平不能超过 3%。Cheng 等[12]的试验也得到了类似结果。本试验的饲料钙水平为 1.62%～2.70%，与 Davis 等[26]和 Cheng 等[12]建议的饲料钙水平相符。

3.2 饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾全虾及肌肉常规成分的影响

本试验结果表明，随着饲料磷水平的增加，凡纳滨对虾全虾和肌肉 CP 的含量得到提高。王冬冬等[2]研究发现，随着饲料磷水平（0.72%～1.74%）的升高，红螯螯虾（*Cherax quadricarinatus*）的肌肉 CP 含量呈一定的增长趋势。日本鲈鱼（*Lateolabrax japonicus*）CP 含量随饲料中磷水平的增加显著上升[27]。本试验结果与上述研究一致，也与黑线鳕鱼[21]、斑点叉尾鮰（*Ietalurus punetaus*）[28]和黑鲷[29]幼鱼上的报道一致。日本真鲈体脂肪含量随着饲料磷水平的升高呈显著性下降[27]；红螯螯虾的全虾和肝胰脏 CL 含量随着饲料磷水平的升高逐渐降低[2]。本试验中饲料磷水平降低了对虾全虾和肌肉 CL 的含量，与上述结果一致。克原氏螯虾（*Procambarus clarkii*）的试验也得到了类似结果[30]。Roy 等[21]认为这可能是因为磷缺乏抑制了动物体内脂肪酸的β-氧化，导致机体对脂肪的利用率降低，转而利用蛋白质供能，导致机体脂肪累积和蛋白质含量减少。而提高饲料中磷水平，能增强动物体内脂肪酸的β-氧化，从而增强机体利用脂肪供能的能力，增加糖原的生成，促使蛋白质沉积，所以机体的蛋白质含量会增加而脂肪含量则减少。游文章等[31]在草鱼磷需要量的研究也发现，脂肪消化率会随着饲料磷水平的增加而提高，这也为磷能促进脂肪氧化，从而加速脂肪代谢提供了证据。本试验中饲料磷水平提高了对虾的肌肉 Ash 的含量。这与罗文佳[13]和 Cheng 等[12]在凡纳滨对虾上研究结果一致。中华绒螯蟹[32]、红螯螯虾[2]、克原氏螯虾[30]和中国明对虾[33]的研究也得到了类似的结果。罗文佳[13]认为这可能是磷的增加和离子之间的协同作用增加了矿物质在机体中的沉积。

3.3 饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾组织钙磷水平的影响

鱼虾机体的钙磷水平，常常作为研究鱼虾饲料钙磷适宜添加水平的一个参考指标[25,34]。本试验中，饲料中添加钙、磷均提高了凡纳滨对虾全虾和虾壳的钙磷水平。克原氏螯虾[30]和中华绒螯蟹[32]的研究发现，全虾和全蟹的磷水平随着饲料磷水平的提高而增加。黄凯等[35]

研究发现，饲料中添加的磷酸二氢钙对凡纳滨对虾全虾钙水平及甲壳钙水平与磷水平均有显著的影响；红螯螯虾全虾和甲壳磷水平随饲料磷水平的提高而增加[2]；中国对虾饲料钙水平与虾壳钙水平之间，饲料磷水平与虾壳磷水平及肌肉磷水平之间呈线性关系[33]；Pan 等[16]在凡纳滨对虾饲料中添加不同水平的磷酸二氢钙，发现全虾和甲壳的钙磷水平均受到饲料钙磷水平的影响；凡纳滨对虾全虾、虾壳的钙磷水平与饲料中钙磷的水平呈正相关联系[13]；胡王龙[30]研究发现，黑鲷全鱼钙磷水平随饲料磷水平的升高而增加。Watanabe 等[36]、Shearer 等[37]、Cain 等[38]、Ketola[39]和 Bureau 等[40]的研究中也证实了鱼体钙磷水平与饲料磷水平之间存在正相关的关系。但 Peñaflorida[21]研究发现，印度对虾全虾磷水平与饲料磷水平无关。Davis 等[41]研究表明，饲料钙磷水平与对虾组织矿物元素含量没有直接相关性；日本囊对虾[42]、美洲螯龙虾（*Homarus americanus*）[43]等研究中也有类似的报道。这可能与虾生长过程中的蜕皮周期有关，因为甲壳动物蜕皮前后甲壳和肌肉中钙磷水平都会有相应变化[43]。

3.4 饲料钙磷添加水平对凡纳滨对虾血清指标的影响

ALP 是一种磷酸单酯酶，可催化磷酸的水解反应及基团的转移反应，为二磷酸腺苷（ADP）磷酸化形成三磷酸腺苷（ATP）提供无机磷酸[44]。红螯螯虾研究中发现随着饲料磷水平的升高，肝脏 ALP 活性降低，当总磷水平为 1.74%时活性最低[2]。Cheng 等[12]在凡纳滨对虾研究中也发现肝脏 ALP 活性随着饲料磷水平（0.5%～2%）的增加而显著降低。本试验随着饲料磷水平的升高，凡纳滨对虾血清 ALP 活性显著下降，与上述研究结果一致。其原因可能是 IP 的增加使得机体有足够的磷酸基团供各种生化反应使用，机体对 ALP 催化产生的磷酸基团需求减小，所以 ALP 的活性会有所下降。而日本真鲈的研究发现，随着饲料磷水平（0.31%～1.17%）的增加，血浆 ALP 活性显著升高[27]。黑鲷幼鱼则表现为随着饲料磷水平的增加，血浆 ALP 活力在饲料总磷为 1.12%时活力最低，进一步磷水平的增加，血浆 ALP 活力呈升高趋势[29]。本试验结果与之不同，这可能与因为试验对象、饲料组成等不同有关。

凡纳滨对虾属于无脊椎动物，具有先天性免疫系统[45]。酚氧化酶原激活系统是一种酶联级系统，甲壳动物的酚氧化酶原激活系统存在于血淋巴中的颗粒细胞，系统中的酚氧化酶可以被细菌脂多糖（LPS）、Ca^{2+}及胰蛋白酶等激活后转变成具有活性的 PO[46]。樊廷俊等[47]在对中国对虾酚氧化酶试验中，发现镁离子（Mg^{2+}）、Ca^{2+}能增强酚氧化酶的活性。本试验

饲料中添加钙提高了凡纳滨对虾的血清 PO 活性，与上述研究一致；而随着饲料磷水平的提高，凡纳滨对虾血清 PO 活性呈先升高后降低的趋势。这可能是饲料中的磷主要以磷酸根的形式存在，过多的磷酸根与铁、镁等金属离子反应生成不溶性磷酸盐，从而影响铁、镁等离子的消化吸收，进而影响离子体内代谢[48]；Mg^{2+}可提高 PO 活性，饲料中过高的磷水平可能是通过影响 Mg^{2+}的吸收进而影响血清 PO 的活性。

军曹鱼的试验中发现，血浆 CHOL 和 TG 含量随饲料磷水平升高而降低[19]。随饲料磷水平的升高，大黄鱼血清中 CHOL 和 TG 含量逐渐降低，具有明显的线性关系[49]。本试验饲料中添加磷降低了对虾血清 CHOL 和 TG 的含量。黑鲷[22]、日本真鲈[27]、胭脂鱼（*Myxocyprinusasiaticus*）[50]和双棘黄姑鱼（*Protonibea diacanthus*）[51]上也有类似报道。黄晓聪[51]认为这与脂肪代谢有关，磷缺乏导致脂肪生成增多，当磷足够时脂肪生成减少，血液 CHOL 和 TG 的含量下降，本试验结果与上述试验结果类似。

本试验中，凡纳滨对虾血清 IP 含量随饲料磷水平的升高呈先升高后趋于稳定的趋势。这与军曹鱼[52]、黑线鳕鱼[21]、马拉巴石斑鱼（*Epinephelus malabaricus*）[53]、日本真鲈[27]上的研究结果一致。

本试验中，基于饲料钙水平与磷水平的交互作用得到凡纳滨对虾在添加 1.00%的钙和 1.26%的磷时有最大的 SGR。在单因素法研究磷需要量的文献中得到的部分结果为：中国对虾仔虾磷需要量为 1.16%～1.37%[54]，与本试验结果一致。30%海水盐度中凡纳滨对虾需要 0.25%的磷[13]；克氏原螯虾[（5.02±0.51） g]最适磷需求量为 1.84%[30]。其结果的差异可能与研究对象、使用的磷源、养殖方式等有关，即使是同一品种在不同盐度、生长阶段、磷源等方面得到的结果也不尽相同。而钙的研究表明一般情况下不需要在饲料中额外添加钙。斑点叉尾鮰和鲤鱼分别饲养在含钙 14 及 20 mL/L 的水中时,其饵料中仅含 0.03%和 0.05%的钙,也未出现钙缺乏症[55-56]。本试验采用钙磷双因素分析，其结果与部分单因素磷需要量试验结果类似，也与部分结果有较大的差异。

动物营养素间一定存在直接或间接的关系，彼此间或协同、或拮抗、或制约。因此考虑营养素关系及养殖环境因子的双因素或多因素试验设计，其结果应更符合养殖的实际情况，对实际生产更有指导意义。但双因素或多因素试验，试验量巨大，获得准确的数据相对困难，因此多因素试验结果是否可作为凡纳滨对虾营养参数数据库的基础数据有待于进一步研究。

4 结 论

① 以 SGR 为判断依据，通过二次回归曲线和折线模型分析得出：饲料中添加 0、0.50%、1.00%的钙时，饲料中磷的适宜添加水平为 1.17%、1.00%、1.26%。

② 凡纳滨对虾在添加 1.00%的钙和 1.26%的磷时有最大 SGR。

参考文献：

[1] 艾春香.虾蟹类钙磷营养研究进展[J].饲料博览,1999,11(9):33–34.

[2] 王冬冬,叶金云,王友慧,等.饲料中不同磷水平对红螯螯虾幼虾生长和体组成的影响[J].上海海洋大学学报,2010,19(3):344–351.

[3] 李春霞.饲料中钙、磷含量对动物机体的影响[J].养殖技术顾问,2014(4):55.

[4] 朱长波,董双林,王芳,等.水环境 Mg^{2+}、Ca^{2+}含量对凡纳滨对虾幼虾生长和能量收支的影响及其机制[J].水产学报,2010,34(1):89–96.

[5] 谢达祥,陈晓汉,黄均,等.水体中钙和镁对凡纳滨对虾幼体成活率和生长的影响[J].水生态学杂志,2007,27(5):46–51.

[6] DESHIMARU O,KUROKI K,SAKAMOTO S,et al.Absorption of labelled calcium-^{45}Ca by prawn from sea water[J].Nippon Suisan Gakkaishi,1978,44(9):975–977.

[7] KANAZAWA A,TESHIMA S I,SASAKI M,et al.Requirements of the juvenile prawn for calcium,phosphorus,magnesium,potassium,copper,manganese,and iron[J].Memoirs of Faculty of Fisheries Kagoshima University,1984,33(1):63–71.

[8] 周歧存,刘东超,叶富良,等.中国对虾营养研究新进展[J].中山大学学报（自然科学版）,2000,39(增刊 1):59–63.

[9] AMBASANKAR K,ALI S A,DAYAL M A.Effect of dietary phosphorus on growth and its excretion in tiger shrimp,*Penaeus monodon*[J].Asian Fisheries Science,2006,19:21–26.

[10] AMBASANKAR K,AHAMAD A S.Effect of dietary phosphorus on growth and phosphorus excretion in Indian white shrimp[J].Asian Fisheries Science,2002,17(2):119–126.

[11] DAVIS D A,LAWRENCE A L,GATLIN D M.Response of *Penaeus vannamei* to dietary calcium,phosphorus and calcium:phosphorus ratio[J].Journal of the World Aquaculture Society,1993,24(4):504–515.

[12] CHENG K M,HU C Q,LIU Y N,et al.Effects of dietary calcium,phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water[J].Aquaculture,2006,251(2/3/4):472–483.

[13] 罗文佳.凡纳滨对虾磷需求量及磷对饲料利用率的影响研究[D].硕士学位论文.广州:中山大学,2010.

[14] 郑涛,潘庆,李桂峰,等.无鱼粉饲料中添加磷和植酸酶对奥尼罗非鱼生长性能及体成分的影响[J].中国水产科学,2006,13(1):112–118.

[15] HUANG J W,YANG Y,WANG A L.Reconsideration of phenoloxidase activity determination in white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J].Fish & Shellfish Immunology,2010,28(1):240–244.

[16] PAN Q,CHEN X Y,LI F,et al.Response of juvenile *Litopenaeus vannamei* to varying levels of calcium phosphate monobasic supplemented to a practical diet[J].Aquaculture,2005,248(1/2/3/4):97–102.

[17] 钱国英,朱秋华.饲料中的钙磷含量与河蟹生长的关系[J].浙江海洋学院学报（自然科学版）,1999,18(3):209–214.

[18] CHAIMONGKOL A,BOONYARATPALIN M.Effects of ash and inorganic phosphorus in diets on growth and mineral composition of seabass *Lates calcarifer* (Bloch)[J].Aquaculture Research,2015,32(1):53–59.

[19] 杨原志,刘仙钦,董晓慧,等.饲料磷水平对军曹鱼幼鱼生长、体成分以及生化指标的影响[J].广东饲料,2016,25(8):24–28.

[20] PEÑAFLORIDA V D.Interaction between dietary levels of calcium and phosphorus on growth of juvenile shrimp,*Penaeus monodon*[J].Aquaculture,1999,172(3/4):281–289.

[21] ROY P K,LALL S P.Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.)[J].Aquaculture,2003,221(1/2/3/4):451–468.

[22] SHAO Q J,MA J J,XU Z R,et al.Dietary phosphorus requirement of juvenile black seabream,*Sparus macrocephalus*[J].Aquaculture,2008,277(1/2):92–100.

[23] NIU J,LIU Y J,TIAN L X,et al.Effect of dietary phosphorus sources and varying levels of

supplemental phosphorus on survival,growth and body composition of postlarval shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J].Aquaculture Nutrition,2008,14(5):472–479.

[24] 刘栋辉.低盐度封闭系统凡纳滨对虾的营养需求与斑节对虾饲料配方研究[D].博士学位论文.广州:中山大学,2005.

[25] ANDREWS J W,MURAI T,CAMPBELL C.Effects of dietary calcium and phosphorus on growth,food conversion,bone ash and hematocrit levels of catfish[J].The Journal of Nutrition,1973,103(5):766–771.

[26] DAVIS D A, GATLIN M G.Dietary mineral requirements of fish and marine crustaceans[J].Reviews in Fisheries Science,1996,4(1):75–99.

[27] ZHANG C X,MAI K S,AI Q H,et al.Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass,*Lateolabrax japonicus*[J].Aquaculture,2006,255(1/2/3/4):201–209.

[28] EYA J C,LOVELL R T.Available phosphorus requirements of food-size channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed practical diets in ponds[J].Aquaculture,1997,154(3/4):283–291.

[29] 胡王龙.饲料磷对黑鲷幼鱼生长和组织生化指标的影响[D].硕士学位论文.杭州:浙江大学,2005.

[30] 李强,谢玲玲,林郁葱,等.克氏原螯虾对饲料中磷的需求量[J].华中农业大学学报,2013,32(2):109–115.

[31] 游文章,黄忠志,廖朝兴,等.草鱼对饲料中磷需要量的研究[J].水产学报,1987,11(4):285–292.

[32] 陈宇腾,杨霞,叶金云,等.中华绒螯蟹幼蟹对饲料中磷的需要量[J].湖州师范学院学报,2014(8):25–29.

[33] 任泽林,李爱杰.饲料中钙磷含量对虾肉、虾壳中钙磷含量的影响[J].中国饲料,1996(6):29–30.

[34] SAKAMOTO S,YONE Y.Effect of dietary calcium/phosphorus ratio upon growth,feed efficiency and blood serum Ca and P level in red sea bream[J].Nippon Suisan Gakkaishi,1973,39(4):343–348.

[35] 黄凯,王武,石祖秀,等.低盐度水体中饲用磷酸二氢钙对南美白对虾生长的影响[J].淡水

渔业,2004,34(6):15–18.

[36] WATANABE T,MURAKAMI A,TAKEUCHI L,et al.Requirement of chum salmon held in freshwater for dietary phosphorus[J].Nippon Suisan Gakkaishi,1980,46(3):361–367.

[37] SHEARER K D,HARDY R W.Phosphorus deficiency in rainbow trout fed a diet containing deboned fillet scrap[J].The Progressive Fish：Culturist,1987,49(3):192–197.

[38] CAIN K D,GARLING D L.Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents[J].The Progressive Fish-Culturist,1995,57(2):114–119.

[39] KETOLA H.Mineral nutrition:effects of phosphorus in trout and salmon feeds on water pollution[J].Journal of Differential Equations,1986,179(2):738.

[40] BUREAU D P,CHO C Y.Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*):estimation of dissolved phosphorus waste output[J].Aquaculture,1999,179(1/2/3/4):127–140.

[41] DAVIS D A,ARNOLD C R.Bioavailability of feed grade calcium phosphate incorporated into practical diets for *Penaeus vannamei*[J].Aquaculture Nutrition,2015,4(3):209–215.

[42] DAVIS D A,LAWRENCE A L,GATLIN D M.Mineral requirements of *Penaeus vannamei*:a preliminary examination of the dietary essentiality for thirteen minerals[J].Journal of the World Aquaculture Society,2010,23(1):8–14.

[43] GALLAGHER M L,BROWN W D,CONKLIN D E,et al.Effects of varying calcium/phosphorus ratios in diets fed to juvenile lobsters (*Homarus americanus*)[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Physiology,1978,60(4):467–471.

[44] 王秋颖.碱性磷酸酶特性及其应用的研究进展[J].中国畜牧兽医,2011,38(1):157–161.

[45] 冀培丰.一氧化氮合酶及其相关因子在凡纳滨对虾免疫反应中特性的研究[D].硕士学位论文.厦门:集美大学,2010.

[46] 刘凯.南美白对虾血细胞中酚氧化酶原系统的激活[J].动物医学进展,2009,30(1):27–32.

[47] 樊廷俊,汪小锋.中国对虾(*Penaeus chinensis*)酚氧化酶的分离纯化及其部分生物化学性质(英文)[J].生物化学与生物物理学报,2002,34(5):589–594.

[48] 侯水清.鲤鱼日粮中磷、铁、锌、镁的最适添加水平[J].武汉轻工大学学报,1996(1):7–15.

[49] MOHAMMAD E Z,KENTARO I,TAKAO Y,et al.Requirement of yellow croaker nibea albiflora for dietary phosphorus[J].Journal of the Faculty of Agriculture - Kyushu University (Japan),1995,40(1/2):147–155.

[50] 袁勇超.胭脂鱼适宜蛋白能量水平、投喂水平和磷需要量及对植物蛋白源的利用研究[D].博士学位论文.武汉:华中农业大学,2011.

[51] 黄晓聪.浅色黄姑鱼和双棘黄姑鱼幼鱼饲料中适宜磷水平及钙磷比研究[D].硕士学位论文.汕头:汕头大学,2015.

[52] 刘仙钦.军曹鱼(*Rachycentron canadum*)幼鱼饲料中适宜磷源、磷水平以及钙磷比研究[D].硕士学位论文.湛江:广东海洋大学,2010.

[53] CHENG A C,WU J D,YANG S D,et al.Dietary phosphorus requirement of juvenile malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*)[J].Journal of the Fisheries Society of Taiwan,2005,32(1):41–52.

[54] 张道波,马琳,马甡.中国对虾仔虾对磷需要量的研究[J].中国海洋大学学报（自然科学版）,2000,30(1):63–67.

[55] LOVELL R T.Nutrition and feeding of fish[M].New York:Van Nostrand Reinhold,1989:163–183.

[56] WILSON R P,ROBINSON E H,GATLIN D M,et al.Dietary phosphorus requirement of channel catfish[J].The Journal of Nutrition,1982,112(6):1197–1202.

Optimum Calcium and Phosphorus Supplemental Levels in Diets for Juvenile *Litopenaeus vannamei*

AN Wenqiang[1] CHEN Xiaoru[2] LI Wenwei[1] DONG Xiaohui[1*] TAN Beiping[1] ZHAO Xin[1]

（1. *Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed*，*Guangdong Ocean University*，*Zhanjiang* 524088, *China*; 2. *Tongwei Co., Ltd.*，*Chengdu* 610041，*China*）

Abstract: This experiment investigated the effects of different dietary supplemental levels of calcium (Ca) and phosphorus (P) on growth performance, body composition, deposition of Ca and

*Corresponding author, professor, E-mail: dongxiaohui2003@163.com (责任编辑　王智航)

P in tissues and serum indexes of juvenile *Litopenaeus vannamei*, and find the optimum supplemental levels of Ca and P in diets. Two factors experimental design was used. Three Ca supplemental levels (0, 0.50% and 1.00%) and five P supplemental levels (0, 0.40%, 0.80%, 1.20% and 1.60%) were adopted, and there were 15 kinds of diets with different Ca and P levels. A total of 1 800 shrimps with initial weight of （0.38±0.01） g were randomly divided into 15 groups, each group was fed one of experimental diets, each group had 3 replicates, and each replicate had 40 shrimps. An 8-week feeding trial was conducted. The results showed as follows: 1) dietary Ca level and the interaction of Ca and P levels significantly affected weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) and feed conversion rate (FCR) of shrimps ($P<0.01$); dietary P level significantly affected WGR, SGR, PER, FCR and survival rate (SR) of shrimps ($P<0.01$). 2) Dietary Ca level significantly affected contents of crude protein （CP）, crude lipid （CL） and ash in muscle ($P<0.01$), and significantly affected contents of CL and ash in whole body of shrimps ($P<0.05$); dietary P level significantly affected contents of CP, CL in muscle, and CP, CL and ash in whole body of shrimps ($P<0.01$); the interaction between dietary Ca and P levels significantly affected CL content in whole body and contents of CP, CL and ash in muscle of shrimps ($P<0.01$). 3) Dietary Ca and P levels and their interaction significantly affected contents of Ca and P in whole body, muscle and exoskeleton of shrimps ($P<0.01$). 4) Dietary Ca level significantly affected serum activities of alkaline phosphatase (ALP) and phenol oxidase (PO), and the content of calcium ion (Ca^{2+}) ($P<0.01$); dietary P level significantly affected serum activities of ALP and PO, and contents of cholesterol (CHOL), triglyceride (TG) and inorganic phosphorus (IP) ($P<0.01$), and significantly affected serum Ca^{2+} content of shrimps ($P<0.05$); the interaction between dietary Ca and P levels significantly affected serum ALP activity, Ca^{2+} and IP contents ($P<0.01$), and significantly affected serum TG content ($P<0.01$). Under the condition of the present experiment, according to SGR, through the analysis of quadratic regression curve model, it is concluded that the optimal supplemental levels of Ca and P in diets for juvenile *Penaeus vannamei* are 1.00% and 1.26%, respectively.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; calcium; phosphorus; growth performance; body composition;

tissue calcium and phosphorus deposition; serum indexes